

АНОТАЦІЯ

Тарасенко Д.О. Модифікація карбонільних похідних тіазолу: синтез та властивості бензімідазолів та хромонів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 – Хімія (Галузь знань 10 – Природничі науки). – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків 2024.

Дисертаційна робота присвячена похідним 2-тіазолілбензімідазолу та 2-тіазолілхромону, що мають флуоресцентні властивості. Фрагмент тіазолу входить в склад багатьох природних речовин таких як ферменти, антибіотики, вітаміни, тощо. Тому на його основі вже було розроблено велику кількість діючих речовин багатьох лікарських препаратів. Одержувати їх найбільш зручно з карбонільних похідних тіазолу, оскільки саме С=О група може бути дуже легко модифікована в широкий ряд інших функціональних груп. Таким чином, одержання похідних 5-формілтіазолу є достатньо актуальною проблемою впродовж останніх десятиліть і для її вирішення було запропоновано багато підходів. Однак, вони все ще не дозволяють одержувати 5-формілтіазоли з різноманітними замісниками в циклі.

Бензімідізольна циклічна система входить до складу вітаміну В₁₂, багато лікарських препаратів бензімідазольного ряду використовується в медицині, ветеринарії та сільському господарстві. Зокрема, омепразол та інші споріднені препарати використовуються для лікування виразки шлунка. З іншого боку окрім біологічної активності бензімідазоли цікаві також в напрямі дослідження їх спектрально-люмінесцентних властивостей і комплексоутворення. А наявність тіазолу в 2-му положенні створює потенційний центр комплексоутворення з іонами металу.

Різноманітні хромони наразі знаходять широке використання насамперед через їх люмінесцентні властивості та реакцію на різноманітні властивості середовища. Наприклад вони використовуються як детектори на деякі катіони, аніони, а також на окремі сполуки, дозволяють досліджувати кислотно-основні властивості середовища, знаходять широке використання в біохімічних дослідженнях. Примітною особливістю цих зондів є те, що завдяки присутності гідроксильної групи в 3-положенні вони здатні до внутрішньомолекулярного переносу протонів у збудженому стані. Хоча флавоноли вже досить детально вивчені, їх гетероциклічні аналоги, через більш складний шлях одержання, залишаються недостатньо вивченими. А враховуючи вагомий вплив гетероциклічного замісника на електронну систему хромонів, що відображається зокрема і на спектрах люмінесценції, їх дослідження є важливим напрямком розвитку люмінесцентних зондів.

У цій роботі використано різні підходи для одержання різноманітних 5-формілтiazолів. Перший - це одержання 5-формілтiazолів незаміщених в 4-му положенні, для цього було використано взаємодію відповідних тіосечовин з хлормалоновим альдегідом. Наступними були синтезовані похідні 4-бром- та 4-хлор-5-формілтiazолу, виходячи з 2,4-дигалоген-5-формілтiazолів для вивчення впливу галогену в 4-му положенні на властивості бензімідазолів та хромонів на їх основі. Для виявлення впливу дигетероциклічної системи були синтезовані 2-тіазолілтiazол та 2-N-метилпіролідиніл тіазол похідні. Для цього було досліджено реакції крос-сполучення 5-формілтiazолу та його похідних. Виявлено, що для введення гетарильних замісників найкращим варіантом є реакція Стілле. Показано, що в цих умовах за участю альдегідної групи реалізуються побічні процеси, що ведуть до осмолення реакційної суміші. Серед варіантів захисту карбонільної групи найкращі результати показав діоксолановий, оскільки його елімінування проходить в більш м'яких умовах та є зворотною реакцією, на відміну від ацетального. Для реакцій крос-сполучення проведено аналіз ефективності багатьох каталізаторів та виявлено найбільш перспективні з них. Виявилося, що в

умовах реакції Стіллі може проходити і нуклеофільне приєднання фрагменту станану за карбонільною групою. Ця реакція є специфічною для деяких карбонільних сполук, не залежить від замісника в станані і проходить з дуже низькими виходами. Тому модифікація карбонільної групи за цим методом є менш ефективною в порівнянні з іншими сучасними синтетичними підходами. При спробі масштабування реакції виходи суттєво знизились. Для вирішення цієї проблеми було проведено серію експериментів та виявлено, що для збереження виходу необхідно проводити реакцію в диметилформаміді та додавати сокатализатор CuI. В результаті розроблено синтетичний підхід до одержання 2-гетарилтіазолів.

Однією з модифікацій синтезованих альдегідів, якій присвячений 3 розділ роботи, було одержання серії 2-(тіазол-5-іл)бензімідазолів з діалкіламіногрупами та атомами галогенів в положеннях 2 та 4 тіазольного фрагменту. Для цього була проведена реакція альдегідів з *o*-фенілендіаміном. Дослідження люмінесцентних властивостей та комплексоутворення одержаних сполук було проведено на якісному рівні, насамперед з метою визначення спектральних ефектів при зв'язуванні з солями важких металів, які вводилися у взаємодію з розчинами флуорофорорів в ацетонітрилі. Серед металів були обрані іони літію та магнію, що мають близький радіус, але різний заряд для оцінки впливу заряду катіона на комплексоутворення. Іони барію та кадмію були вибрані через їх розмір та спорідненість іона кадмію до сірки, що, можливо, відіграє роль при зв'язуванні з хелатною порожниною. Також були досліджені спектральні ефекти протонування цільової сполуки трифтороцтовою кислотою, і встановлено, що координація протона, на відміну від полівалентних катіонів металів, веде до гіпсохромного зсуву. Проведені якісні дослідження дозволяють прийти до висновку, що бензімідазол-тіазольний фрагмент є перспективним сайтом координації іонів металів, який можна використовувати в дизайні флуоресцентних зондів для визначення іонів Cd^{2+} і Mg^{2+} .

Іншим напрямом модифікації одержаних альдегідів є синтез на їх основі 3-гідроксихромонів. Оскільки планувалось їх дослідження з точки зору зондів для виявлення ферменту β -глікозидази, отримані і їх глюкозильовані похідні. Оскільки 2-тіазоліл-3-гідроксихромони не були до цього описані, дослідження взаємодії флаванол – фермент проводилось для серії флаванолів з відомими методами одержання.

Дослідження взаємодії флавонол-фермент проводилось шляхом вивчення флуоресцентних властивостей флавонолів у водному нейтральному розчині за присутності та за відсутності β -глікозидази. Далі, для вивчення взаємодії зв'язування флавонолу з ферментом, був використаний метод флуоресцентного титрування. В результаті титрування виявлено значні зміни флуоресценції, такі як посилення флуоресценції та поява нових смуг випромінювання. Збільшення флуоресценції пов'язане з втратою індукованого водою гасіння флуоресценції, що може бути результатом глибокого проникнення флавонолів у гідрофобну, вільну від води область, кишені ферменту β -глікозидази. Для кількісної інтерпретації взаємодій білок-ліганд була використана специфічна модель зв'язування та модель розподілу флаванолу між водною та білковою фазами. Для цього були побудовані графіки залежності відносної інтенсивності флуоресценції флавонолу як функція концентрації β -глікозидази. В результаті обидві моделі добре описували отримані дані титрування.

Введення замісників, як електрондонорного так і акцепторного характеру в *n*-положення 2-фенільного радикалу мало вплинуло на розраховані константу зв'язування з ферментом та коефіцієнт розподілу. Цей факт свідчить, що в досліджуваних серіях характер зв'язування з β -глікозидазою в основному зумовлений взаємодіями Ван-дер-Ваальса та гідрофобними силами.

При модифікації 5-формілтіазолів в 3-гідроксихромони використовувався відомий синтетичний підхід через одержання відповідних пропенонів взаємодією з *o*-гідроксиацетофеноном і їх подальше введення в

реакцію Алгара-Фліна-Оямади. Однак, для деяких похідних одержання проміжного аналогу халкону мало ускладнення. Тому було використано альтернативний синтетичний підхід, який полягає в одержанні ненасичених кетонів *in situ* та дією на реакційне середовище - пероксидом водню в лужному середовищі. Було проведено порівняння цього методу з постадійним одержанням, в результаті чого виявлено, що вихід прямого методу трохи нижчий.

Вивчення синтезованих хромонів було проведено на якісному рівні, спектри поглинання та люмінесценції виміряні в ацетонітрилі. Для одержаних похідних наявний сутєвий батохромний зсув, як в спектрах поглинання, так і люмінесценції. В деяких випадках основний пік люмінесценції має максимум при понад 600 нм, що робить їх потенційними претендентами на використання в аналізі біологічних об'єктів. Проаналізовано і вплив замісників в різних положеннях тіазольного фрагменту. Так, зміна замісника в 4-му положенні не впливає на спектральні характеристики хромонів, тоді як в 2-му веде до значних змін, що вказує на сутєвий вплив на усю π -електронну систему хромону.

Заключним етапом роботи є глікозилювання одержаних 3-гідроксихромонів та дослідження їх взаємодії з β -глікозидазою. З цією метою було апробовано усі методи глікозилювання, наявні в літературі, однак жоден з них не дозволив одержати продукти із задовільними виходами. Тому було проведено модифікацію методу, що показав найкращий результат – прямої етерифікації. Для цього були перевірені різні основи та розчинники, а також температурний режим. В результаті був розроблений більш ефективний метод синтезу глікозилюваних похідних хромонів. За цим методом були одержані і глікозиди флавонолів для модельних досліджень. Через те що інтенсивність короткохвильової смуги залишається постійною в процесі гідролізу, вона може бути використана як внутрішній флуоресцентний стандарт. Це дає змогу використовувати глікозиди

флавонолу не тільки для виявлення активності β -глікозидази в біологічних зразках, але й для кількісної оцінки цієї активності.

Дослідження кінетики реакції гідролізу глікозиду проведено за значеннями інтенсивності флуоресценції в максимумах смуг T^* агліконів. Аналіз залежності між інтенсивністю флуоресценції T^* і часом реакції проводили за допомогою рівнянь, що описують кінетичні реакції першого та другого порядку. Було виявлено, що інтенсивності флуоресценції, які відповідають зворотним значенням концентрацій глікозидів, демонструють лінійну залежність від часу реакції, що відповідає реакції 2-го порядку. Той факт, що ферментативний гідроліз є реакцією другого порядку, вказує на те, що стадією, що обмежує швидкість у цьому процесі, є зв'язування глікозильованих похідних флавонолів з β -глікозидазою, а не ферментативне розщеплення O-глікозидного зв'язку у флавонолі, вивільняючи відповідний аглікон і глюкозу.

Для кращого розуміння молекулярних аспектів взаємодії флавонол-фермент, структуру фермент-субстратного комплексу досліджували за допомогою розрахунків молекулярного докінгу. Розрахунки стикування свідчать про те, що зв'язування зонда з ферментом головним чином обумовлено гідрофобними взаємодіями з бічними ароматичними ланцюгами триптофану W328, W402 і W412, а також з ароматичним кільцем F412 відповідно. Афінність зв'язування флавонолів з білком β -глюкозидази залежить від його структури, тому введення 4'-бензилоксигрупи до флавонолглікозиду збільшило афінність зв'язування з -9,9 до -10,8 ккал/моль. Однак, сильніше зв'язування бензилоксизаміщеного глюкозиду порівняно з його незаміщеним аналогом потребуватиме вищого енергетичного бар'єру активації для формування відповідного перехідного стану субстрат-рецептор в реакції ферментативного гідролізу, що приводить до 2,3-кратного зниження відповідної константи швидкості. Таким чином, ці результати відкривають можливість для застосування глюкозидів флавонолу, як простих у

використанні індикаторів для швидкого флуоресцентного моніторингу активності інших ферментів із родини глікозидаз.

Ключові слова: органічний синтез, 5-формілтіазоли, 2-тіазоліл-бензімідазоли, 2-тіазоліл-3-гідроксихромони, реакція крос-сполучення, гетероциклізація, молекулярний докінг, спектри поглинання та люмінесценції, комплексоутворення, реакція перенесення протону в збудженому стані, молекулярно-динамічне моделювання, молекулярна структура.